

酸化酵素による *l*-アスコルビン酸の酸化の際の 塩化ソーダの影響※(第1報)

過酸化水素水による *l*-アスコルビン酸の酸化の際の塩化ソーダの影響

一 瀬 義 文 (食物学教室)

Effect of Sodiumchloride on the Oxidation of Ascorbic acid by
Oxidase. Part. 1. Effect of Sodiumchloride on the Oxidation of
Ascorbic acid by Hydrogen peroxide.

Yoshifumi, ICHISE.

I 緒 言

筆者は先に蔬菜を水煮する場合のビタミンCの損失防止に関する研究¹⁾²⁾³⁾に於て蔬菜水煮の際にビタミンCの分解が塩化ソーダによつて或程度防止出来ることを報告しその際アスコルビン酸酸化酵素の作用に及ぼす塩化ソーダの影響にも論及したのであるが更に過酸化酵素及びチロシナーゼによるアスコルビン酸の酸化の際に及ぼす塩化ソーダの影響を研究したのでここに報告する次第である。

過酸化酵素の実験には過酸化水素水を使用するので先づ本報に於ては過酸化水素水によるアスコルビン酸酸化の際の塩化ソーダの影響を吟味し後報に於て馬鈴薯浸出液、過酸化酵素及チロシナーゼによるアスコルビン酸酸化の際の塩化ソーダの影響を報告したい。

II 実験及び其結果並びに考察

1. 過酸化水素水による *l*-アスコルビン酸の酸化の際の過酸化水素の最適濃度を知るために次の実験を行つた。即ち和光製薬社製 *l*-アスコルビン酸及日本薬局方過酸化水素水(3%)を用い Table 1 の試験液組成によつて反応液を調製しよく振盪して20°Cに5分間放置し残存した還元型ビタミンCをインドフェノール色素法⁴⁾によつて測定し酸化されたビタミンCの百分率を求め酸化率として表わした。その結果は Table 1 に示す通りであつた。

この表から過酸化水素水1内至2c.c. 即ち0.3乃至0.6%程度になるやうに用いた場合が酸化力が強いことを知つたので以後の実験には過酸化水素水の濃度は0.3%として研究を進めた。

2. 次に過酸化水素水による *l*-アスコルビン酸(以下 A.A. と略記す)の酸化が塩化ソーダの濃度温度 pH 及び時間の経過により如何なる影響を受けるかをみるために Table 2 の試験液組成により20°, 30°, 40°, 60°C に於て夫々 pH 3.8 (Buffer なし), 4, 5, 6, 7, 8, に於ける A.A. の酸化状況を5内至10分毎に前記の方法により測定し酸化率を求めた。其の結果は Table 3, 4, 5, 6, 7, 8, に示した通りであつた。

但し Buffer は pH 4, 5, 6 は MICHAELIS の醋酸醋酸ソーダ混合液を pH 7, 8 は CLARK

Table 1. Composition of the Samples

Sample number.	Ascorbic acid (A.A.)		H ₂ O ₂ Solution c.c.	Total Volume	Residual A.A. Con- tent (mg%)	Ratio of oxidized A.A. Content, %
	c.c.	mg.				
Control	0.1	1.0	—	Distilled water was added to bring the volume in all tubes to 10c.c.	10	0
I	〃	〃	0.1		8.8	12
II	〃	〃	0.5		〃	〃
III	〃	〃	1.0		8.2	18
IV	〃	〃	2.0		〃	〃
V	〃	〃	4.0		8.8	12
VI	〃	〃	6.0		〃	〃
VII	〃	〃	8.0		〃	〃

の酸性燐酸カリ、苛性ソーダ混合液を用い試験液の全容積は蒸留水を加えて 10c.c. とした。猶別に過酸化水素水に塩化ソーダを加えたものはインドフェノール色素液を還元せぬことを実験によつて確めた。

Table 2. Composition of the Samples

Sample number.	l-Ascorbic acid.		H ₂ O Solution.	NaCl g.	Total Volume
	c.c.	mg.			
Control	0.1	1.0	—	—	Distilled water and Buffer Solution were added to bring the Volume in all tubes to 10c.c.
I	〃	〃	1.0	—	
II	〃	〃	〃	0.05	
III	〃	〃	〃	0.10	
IV	〃	〃	〃	0.30	
V	〃	〃	〃	0.50	
VI	〃	〃	〃	1.00	
VII	〃	〃	〃	3.00	

Table 3. Ratio of Oxidized Ascorbic acid Content, (Ratio of oxidized A.A. Content)
at pH 3.6 (without Buffer)

(1) Case at 20°C

(A) Ratio of Ascorbic acid Content oxidized
by H₂O₂ and NaCl. (%).

Time (min.)	5	15	25	35	45	55	65
Sample No.							
I	18	50	58	65	70	75	80
II	35	75	90	92	95	99	100
III	45	80	93	100	—	—	—
IV	65	98	100	—	—	—	—
V	90	100	—	—	—	—	—
VI	96	100	—	—	—	—	—
VII	96	100	—	—	—	—	—

(B) Effect of NaCl on the Oxidation of A.A.
by H₂O₂

Time (min.)	5	15	25	35	45	55	65
Sample No.							
II - I	17	25	32	27	25	24	20
III - I	27	30	35	35	—	—	—
IV - I	47	48	42	—	—	—	—
V - I	72	50	—	—	—	—	—
VI - I	78	50	—	—	—	—	—
VII - I	78	50	—	—	—	—	—

(2) Case at 30°C

(A)

Time (min.) Sample No.	5	15	25	35	45	55
I	38	53	65	70	80	85
II	60	90	95	100	—	—
III	80	95	100	—	—	—
IV	85	98	100	—	—	—
V	100	—	—	—	—	—
VI	100	—	—	—	—	—
VII	100	—	—	—	—	—

(B)

Time (min.) Sample No.	5	15	25	35	45	55
II - I	22	37	30	30	20	15
III - I	42	42	35	—	—	—
IV - I	47	45	35	—	—	—
V - I	62	—	—	—	—	—
VI - I	62	—	—	—	—	—
VII - I	62	—	—	—	—	—

(3) Case at 40°C, 60°C.

(A)

Temp. Time (min.) Sample No.	40°C				60°C	
	5	15	25	35	5	15
I	50	75	83	90	90	100
II	80	91	96	100	90	100
III	82	100	—	—	92	100
IV	95	100	—	—	95	100
V	100	—	—	—	100	—
VI, VII	100	—	—	—	100	—

(B)

Temp. Time (min.) Sample No.	40°C				60°C	
	5	15	25	35	5	15
II - I	30	16	13	10	0	0
III - I	32	25	—	—	2	0
IV - I	45	25	—	—	5	0
V - I	50	—	—	—	10	—
VI, VII - I	50	—	—	—	10	—

Table 4. Ratio of oxidized A.A Content at pH 4.

(1) Case at 20°C, 30°C.

(A)

Temp. Time (min.) Sample No.	20°C				30°C			
	5	15	25	35	5	15	25	35
I	45	55	60	68	47	55	65	70
II	50	86	90	100	65	91	95	100
III	55	90	100	—	80	95	100	—
IV	75	98	100	—	85	98	100	—
V	96	100	—	—	100	—	100	—
VI	100	—	—	—	100	—	—	—
VII	100	—	—	—	100	—	—	—

(B)

Temp. Time (min.) Sample No.	20°C				30°C			
	5	15	25	35	5	15	25	35
II - I	5	31	30	32	18	36	30	30
III - I	10	35	40	—	33	40	35	—
IV - I	30	43	40	—	38	43	35	—
V - I	51	45	—	—	53	—	—	—
VI - I	55	—	—	—	53	—	—	—
VII - I	55	—	—	—	53	—	—	—

(2) Case at 40°C, 60°C.

(A)

Sample No.	Temp. Time (min.)	40°C				60°C	
		5	15	25	35	5	15
I		60	85	86	95	90	100
II		84	99	100	—	92	100
III		84	100	—	—	92	100
IV		95	100	—	—	98	100
V		100	—	—	—	100	—
VI		100	—	—	—	100	—
VII		100	—	—	—	100	—

(B)

Sample No.	Temp. Time (min.)	40°C				60°C	
		5	15	25	35	5	15
II - I		24	14	14	5	2	0
III - I		24	25	—	—	2	0
IV - I		35	25	—	—	8	0
V - I		40	—	—	—	10	—
VI - I		40	—	—	—	10	—
VII - I		40	—	—	—	10	—

Table 5. Ratio of Oxidized A.A. Content. at pH 5.

(A)

Sample No.	Temp. Time (min.)	20°C				30°C				40°C				60°C	
		5	15	25	35	5	15	25	35	5	15	25	35	5	15
I		46	55	60	70	50	58	70	75	65	85	88	98	92	100
II		60	82	98	100	68	92	98	100	85	100	—	—	100	100
III		60	94	100	—	80	95	100	—	86	100	—	—	100	—
IV		80	98	100	—	88	98	100	—	95	100	—	—	100	—
V		100	—	—	—	100	—	—	—	100	—	—	—	100	—
VI		100	—	—	—	100	—	—	—	100	—	—	—	100	—
VII		100	—	—	—	100	—	—	—	100	—	—	—	100	—

(B)

Sample No.	Temp. Time (min.)	20°C				30°C				40°C				60°C	
		5	15	25	35	5	15	25	35	5	15	25	35	5	15
II - I		14	27	38	30	18	34	28	25	20	15	—	—	8	0
III - I		14	39	40	—	30	37	30	—	21	15	—	—	8	—
IV - I		34	43	40	—	38	40	30	—	30	15	—	—	8	—
V - I		54	—	—	—	50	—	—	—	35	—	—	—	8	—
VI - I		54	—	—	—	50	—	—	—	35	—	—	—	8	—
VII - I		54	—	—	—	50	—	—	—	35	—	—	—	8	—

Table 6. Ratio of Oxidized A.A. Content at pH 6.

(A)

Sample No.	Temp. Time (min.)	20°C				30°C				40°C				60°C	
		5	15	25	35	5	15	25	35	5	15	25	35	5	15
I		50	55	60	72	55	60	70	78	70	88	90	100	92	100
II		70	83	98	100	75	92	98	100	85	100	—	—	100	—
III		75	95	100	—	80	96	100	—	88	100	—	—	100	—
IV		85	98	100	—	90	100	—	—	98	100	—	—	100	—
V		100	—	—	—	100	—	—	—	100	—	—	—	100	—
VI		100	—	—	—	100	—	—	—	100	—	—	—	100	—
VII		100	—	—	—	100	—	—	—	100	—	—	—	100	—

(B)

Sample No.	Temp. Time (min.)	20°C				30°C				40°C				60°C	
		5	15	25	35	5	15	25	35	5	15	25	35	5	15
II - I		20	28	38	28	20	32	28	22	15	12	—	—	8	—
III - I		25	40	40	—	25	36	30	—	18	12	—	—	8	—
IV - I		35	43	40	—	35	40	—	—	28	12	—	—	8	—
V - I		50	—	—	—	45	—	—	—	30	—	—	—	8	—
VI - I		50	—	—	—	45	—	—	—	30	—	—	—	8	—
VII - I		50	—	—	—	45	—	—	—	30	—	—	—	8	—

Table 7. Ratio of Oxidized A.A. Content at pH 7.

(A)

Sample No.	Temp. Time (min.)	20°C			30°C			40°C		60°C	
		5	15	25	5	15	25	5	15	5	15
I		60	90	100	62	94	100	75	100	95	100
II		75	100	—	80	100	—	90	100	100	—
III		80	100	—	85	100	—	90	100	100	—
IV		88	100	—	90	100	—	98	100	100	—
V		100	—	—	100	—	—	100	—	100	—
VI		100	—	—	100	—	—	100	—	100	—
VII		100	—	—	100	—	—	100	—	100	—

(B)

Temp. Time (min) Sample No.	20°C			30°C			40°C		60°C	
	5	15	25	5	15	25	5	15	5	15
II - I	15	10	0	22	6	0	15	0	5	0
III - I	20	10	0	23	6	0	15	0	0	0
IV - I	28	10	0	28	6	0	23	0	0	0
V - I	40	—	—	38	—	—	25	—	—	—
VI - I	40	—	—	38	—	—	25	—	—	—
VII - I	40	—	—	38	—	—	25	—	—	—

Table 8. Ratio of Oxidized A.A. Content at pH 8.

(A)

Temp. Time (min) Sample No.	20°C		30°C		40°C	
	5	15	5	15	5	15
I	65	92	70	95	94	100
II	76	100	78	100	98	100
III	80	100	82	100	100	—
IV	90	100	92	—	100	—
V	100	—	100	—	100	—
VI	100	—	100	—	100	—
VII	100	—	100	—	100	—

(B)

Temp. Time (min) Sample No.	20°C		30°C		40°C	
	5	15	5	15	5	15
II - I	11	8	8	5	4	0
III - I	15	8	12	5	6	—
IV - I	25	8	22	—	6	—
V - I	35	—	30	—	6	—
VI - I	35	—	30	—	6	—
VII - I	35	—	30	—	6	—

以上の実験結果から次の事が考えられた。

- (1) 各 pH, 各温度に於て塩化ソーダの量が多くなるにつれて酸化率は高くなつた。
- (2) 各 pH に於て温度の上昇と共に酸化率は高くなつた。
- (3) pH の増加と共に酸化率は高くなつた。
- (4) 塩化ソーダによる促進作用は概ね pH 3.6 乃至 6, 温度は 20°乃至 30°, 時間は 15分以内, 又塩化ソーダの濃度は高くなる程, 強かつた。

Ⅲ 要

約

- (1) 還元水素水による L-アスコルビン酸の酸化は塩化ソーダによつて却つて促進された。
- (2) 還元水素水の濃度は 0.3 乃至 0.6%の時に最もよく酸化した。
- (3) 塩化ソーダの pH, 濃度, 温度, 等は高くなるにつれ又作用時間は永くなる程, 還元水素水と塩化ソーダとの共同によつて L-アスコルビン酸の酸化される率は多かつた。しかし塩化ソーダによる促進作用は概ね時間は15分以内温度は20°乃至30°C pH は3.6乃至6, 塩化ソーダ濃度は高くなる程, 強かつた。

終りに臨み御懇篤な御指導を賜はつた九大岩田久敬博士に深甚なる謝意を表する。

(1952. 9. 25)

文 献

- (1) 一 瀬 義 文：長崎大学学芸学部研究報告 (自然科学) 2, (1952)
- (2) } / : 本誌及び昭和27年5月17日日本農芸化学会西日本支部総会に於て発表
- (3) }
- (4) ビタミン集談會編：ビタミン標準定量法